Aus der Universitäts-Hautklinik-Rostock
(Direktor Prof. Dr. W. Frieboes).

Zur Frage der Gewinnung von Gonokokken-Dauerkulturen

Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Heinz Möhlmann.

ROSTOCK
Winterbergs Buchdruckerei
1931.

Referent: Priv.-Dozent Dr. Nagell.
Korreferent: Professor Dr. Frieboes.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Nachdem es Neisser 1879 gelungen war, den Erreger der Gonorrhoe, den Gonokokkus, mikroskopisch scharf zu umreissen, blieben weitere Versuche, diesen auch kulturell zu erfassen, lange Zeit erfolglos.

Berücksichtigt man die drei Postulate Koch's, die er an die Anerkennung eines Krankheitserregers knüpfte, so mussten dementsprechend die Bemühungen darauf gerichtet sein, einen Nährboden zu finden, auf dem der von Neisser beschriebene Diplokokkus kulturell zu bekommen war und von dem aus bei Rücküberimpfung abermals das typische Krankheitsbild sich entwickelte.

Diese Bemühungen, die ausführlich in Bumm's Monographie über den Gonokokkus Neisser kritisch abgehandelt sind, sind auch heute noch der Ausgangspunkt aller Züchtungsversuche.

Schon 1880 publiziert Bucai eine Arbeit, in der er behauptet, Gonokokken auf künstlichem Nährboden gezüchtet zu haben. Da er die Art der Versuchsanordnung und der Nährböden in seiner Arbeit nicht angibt, erübrigt sich ein näheres Eingehen auf diese Publikation. Weiterhin versuchten Sternberg in Fleisch-Peptonlösung und Oppenheimer mit erstarrtem Blutserum ein künstliches Wachstum der Gonokokken zu erzielen. Sie erzielten rasch wachsende Diplokokken, die mit den Gonokokken, nachträglich beurteilt, in keinerlei Beziehung stehen konnten. Was die Echtheit der Kulturen anbetrifft, haben die Züchtungsversuche Leistikow's, Löffler's und Krause's mehr Wahrscheinlichkeit für sich.

Leistikow und Löffler benutzten als Nährsubstrat Blutserumgelatine. Die Identifizierung erfolgte durch das Mikroskop, so dass man immerhin Fehlerquellen nicht mit aller Sicherheit ausschliessen kann. Ausführlicher beschreibt Krause sein Verfahren. Er entnahm gonorrhoischen Bindehautentzündungen Neugeborener sein Impfmaterial und impfte es auf in kleinen Schalen erstarrtes Hammelblutserum. Auf diesem trat nach 24 Stunden bei 32 bis 38 Grad Brutschranktemperatur ein Wachstum ein und nach 2—3maligem Überimpfen erhielt er eine Reinkultur, deren makroskopisches und mikroskopisches Verhalten stark für die Echtheit der Kultur sprach.

Die grossen Differenzen in den Resultaten der Kulturversuche veranlassten nun Bumm, sich experimentell mit diesem Problem zu befassen. Anfänglich benutzte er Fleichextrakt und Fleischinfuspeptongelatine von verschiedener Konzentration und meistens schwach alkalischer Reaktion. Aber eine Züchtung gelang trotz mannigfacher Variation nicht. Auch die ersten Versuche mit erstarrtem Rinderblut- und Hammelblutserum brachten nicht den gewünschten Erfolg. Es wuchsen zwar manchmal den Gonokokken weitgehend ähnliche Diplokokken, die jedoch beim Überimpfen auf eine normale Urethral-Schleimhaut keine Gonorrhoe hervorriefen.

Nach weiteren, äusserst exakt ausgeführten Versuchen gelang es Bumm endlich, auf menschlichem Blutserum, das er aus der Placenta frisch Entbundener entnahm, eine Reinkultur von Gonokokken zu erzielen. Der sichere Beweis, dass es sich hierbei tatsächlich um echte Gonokokken handelte, war erbracht, als es ihm gelang, durch Übertragung des künstlich gezüchteten Erregers auf eine intakte Schleimhaut eine einwandfreie Gonorrhoe zu erzeugen.

Hiermit war ein weitgehender Fortschritt gemacht und der Weg für ein weiteres Studium des biologischen Verhaltens des Gonokokkus frei. Aus der Erkenntnis, dass Gonokokken in ihrem Wachstum auf künstlichen Nährböden auf eiweisshaltige Substanzen angewiesen sind, bauten sich weitere Verbesserungen und Änderungen in der Zusammensetzung der Nährsubstrate auf.

Ein wesentlicher Fortschritt wurde durch die Arbeiten Wertheim's erzielt. Dieser darf für sich das Verdienst in Anspruch nehmen, „durch Einführung des Serum-Agars die Züchtung des Gonokokkus zu einer sicheren und für praktische Zwecke bequemen Methode gestaltet zu haben" (Cohn). Auf das von Wertheim ausgearbeitete Verfahren näher einzugehen, würde hier zu weit führen. Nur soviel sei gesagt, dass er schon nach 48 Stunden Reinkulturen erhielt, die in allen ihren Merkmalen den nach Bumm's Methode erzielten glichen.

Das gegenüber der Bumm'schen Methode bedeutend üppigere Wachstum auf dem Blutserum-Agar glaubt Wertheim auf den Zusatz des Peptons zurückführen zu dürfen.

Weitere Variationen der Nährboden-Zusammensetzung darf ich kurz streifen. So wies Kiefer darauf hin, dass man das Blutserum durch Acites- und Hydrozelenflüssigkeit mit Erfolg

ersetzen könne. Kontrollversuche bestätigten dies. Dass sich der Ascites-Agar in der Folge als sehr brauchbarer und dem Wertheim'schen Serum-Agar gleichwertiger Nährboden erwiesen hat, bedarf wohl keines Hinweises. Gleichfalls hat das von Kiefer an Stelle des Plattengusses vorgeschlagene Ausstrichverfahren sich weitgehendst in der Praxis durchgesetzt und als sehr vorteilhaft erwiesen.

Mannigfach sind auch die Versuche gewesen, das menschliche Serum durch tierisches zu ersetzen. Es hat sich gezeigt, dass dies durchaus möglich ist, dass aber im allgemeinen der Nährboden mit menschlichem Serum zuverlässiger ist.

Kurz andeuten will ich schon jetzt die Versuche Steinschneider's u. a., Gonokokken auf eiweisshaltigem Urin-Agar zu züchten. Näheres hierüber wird im Hauptteil dieser Arbeit ausgeführt.

Ferner finden sich in der Literatur unzählige Angaben über Ersatz des Serum-Eiweisses durch alle möglichen Eiweissarten, angefangen von den verschiedensten Tier-Eiweissarten bis zum synthetisch hergestellten Eiweiss.

So sind eine unendliche Reihe von Kulturverfahren angegeben, die auch teilweise sicher gute Resultate ergeben. Ein Nährboden, der sich A. Cohn besonders gut bewährt hat, ist der von Levinthal ursprünglich zur Züchtung von Influenza-Bazillen bestimmte Kochblut-Agar.

An weiteren Versuchen zur grösseren Vereinfachung des Nährboden-Substrates hat es nicht gefehlt. So wollen einige Autoren festgestellt haben, dass auf einfachem Agar, der einen ganz bestimmten Neutralitätsgrad hat, Wachstum von Gonokokken zu erzielen sei. Kontrollversuche haben ergeben, dass dies nur unter der Einschränkung möglich ist, wenn mit den Gonokokken Eitermassen, wenn auch in geringem Grade, mit auf die Platte gebracht werden. Wie sich die Frage des Wachstums auf einfachem Agar bei längerer Zeit auf Serum-Agar fortgezüchteten Gonokokken verhält, werden wir später noch sehen.

Zum Schluss dieser gedrängten Übersicht über die Entwickelung der künstlichen Gonokokkenzüchtung sei noch erwähnt, dass nach den gleichen Prinzipien hergestellte flüssige Nährsubstrate (statt Agar-Bouillon) ein ebenso brauchbares, für manche Zwecke vielleicht geeigneteres Nährmedium abgeben.

So entspricht z. B. dem Wertheim'schen Serum-Agar eine aus 2—3 Teilen Fleischwasser-Bouillon und einem Teil Blutserum zusammengesetzte Serum-Bouillon.

Wenn wir nun den heutigen Stand der künstlichen Gonokokken-Züchtung kritisch bewerten, so kann man sagen, dass es heute verhältnismässig leicht ist, in einem gut geleiteten und exakt arbeitenden Laboratorium Gonokokken aus gonokokkenhaltigem Sekret zu züchten und diese so gewonnenen Stämme monate-, ja jahrelang zu erhalten. Um dies zu erreichen, ist man aber auch heute immer noch gezwungen, die Kulturen möglichst alle 24 bezw. 48 Stunden auf frische Nährböden zu überimpfen. Diese Belastung an Zeit und Geld lässt es begreiflich erscheinen, dass es heute noch an nur wenigen Instituten und Kliniken üblich ist, Gonokokken-Stämme zu halten.

Praktisch ist diese Tatsache insofern von Bedeutung geworden, als in letzter Zeit immer wieder auf die Wichtigkeit der Lebend-Vakzinierung auch in der Gonorrhoe-Behandlung hingewiesen wird.

Dass eine Klärung dieser aktuellen Frage bedeutend erleichtert wird, wenn es gelingt, ein Nährsubstrat zu finden, das uns der täglichen Überimpfung enthebt, mit anderen Worten: ein Nährmedium, in dem sich Gonokokken längere Zeit lebensfähig erhalten, liegt auf der Hand. Über unsere in dieser Hinsicht zum Teil schon 1926 angestellten Züchtungsversuche soll in folgendem berichtet werden.

Einen Weg, zu dem gewünschten Resultat zu kommen, schien uns die im Jahre 1925 von Borju und S. S. Serisorin erschienene Arbeit über experimentelle Kaninchen-Gonorrhoe zu weisen. Danach will es den Verfassern gelungen sein, bei Kaninchen eine echte Gonorrhoe der Augen, Nase und des Genitaltraktus hervorzurufen, nach dem die Schleimhäute dieser Organe mit 25 %iger steriler Ochsengalle vorbehandelt waren. Die Grundlage, d. h. die Gallevorbehandlung, dieser Arbeit, durch die die bisher geltende Ansicht, dass Gonokokken nur für den Menschen pathogene Bakterien sind, und von dem Tierkörper, ohne spezifische Krankheitserscheinungen zu machen, resorbiert werden, stark ins Wanken kommt (Nagell), lässt uns zwei Deutungen der Wirkungsweise als möglich erscheinen: einmal besteht die Möglichkeit, dass es sich um eine Sensibilisierung durch die Galle handelt, oder aber es ist die Anwesenheit der Galle selbst auf der Schleimhaut erforderlich, um ein Wachstum auf dieser zu erzielen.

Nun lassen die Untersuchungen von einer ganzen Reihe Autoren auf dem Gebiete der Gonokokken-Forschung die erste der oben angegebenen Möglichkeiten sehr unwahrscheinlich erscheinen. So kommen Partsch und Nagell, Bursuk, Burtscher und Lauter, Schrader und Retzlaff zu einer vollkommenen Ablehnung einer Sensibilisierung durch die Galle. Andere Autoren, besonders russische, sind etwas zurückhaltender in ihren Ergebnissen. Verwiesen sei hier nur auf die Arbeiten von Pecnikow und Zeliscere und Finkelstein und Timochina.

Die Ergebnisse dieser Kontrollversuche berücksichtigend, dürfen wir wohl — wenigstens so lange, bis keine überzeugenden Beweise vorliegen — die Möglichkeit einer Sensibilisierung der Kaninchen-Schleimhaut durch die Gallevorbehandlung ablehnen. Es schien uns daher angebracht, die zweite der oben angegebenen Möglichkeiten — nämlich, ob es die Anwesenheit der Galle selbst ist, die ein besseres Wachstum der Gonokokken bedingt — einmal in vitro nachzuprüfen. Die Richtigkeit der Arbeit Burju's und Serisorin's vorausgesetzt, wird man theoretisch annehmen dürfen, dass auch Gallezusatz zum Nährsubstrat für den Gonokokkus günstigste Lebensbedingungen schafft.

Über unsere in dieser Richtung in mannigfacher Variation angestellten Versuche werden die nachfolgenden Tabellen Auskunft geben.

Vorweg nehmen darf ich eine kurze Beschreibung der Versuchsanordnung. Wir verwendeten verschiedene Gallen in Berücksichtigung der Tatsache, dass die Zusammensetzung der Galle von der Art der Nahrung beeinflusst wird (Landois — Rosemann). So verwendeten wir einmal deutsche und dänische Rinder- und Schweinegalle. Diese also verschieden zusammengesetzten Gallen setzten wir in steigenden und fallenden Mengen und in verschiedener Konzentration einfachem Pepton-Agar und Ascites-Agar zu. Auf diese so erhaltenen Nährböden wurden in der üblichen Weise Gono- und Meningokokken überimpft. Die Ablesung erfolgte nach 24 und 48 Stunden. Als Kontrolle wurden gleichzeitig die verwendeten Stämme in Ascites-Bouillon angesetzt. Weiteres über Art der Versuchsanordnung ist aus den Tabellen zu entnehmen. Wir lassen zuerst die Tabellen mit Gallezusatz zu einfachem Pepton-Agar folgen.

Versuche mit Zusatz von verdünnter Rindergalle (auf 100 ccm etwa 15 ccm Aqua dest.) in steigenden Mengen zum einfachen Pepton-Agar bei Gonokokken- und Meningokokken-Kulturen.

Kulturen	Zeit d. Ablsg. n. Std.	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0,10	—3,0
Gonok.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sei.	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stü.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meningokokken Berlin	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meningokokken Hygienisches Inst. Rostock.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Versuche mit Zusatz von unverdünnter Schweinegalle in steigenden Mengen zum einfachen Pepton-Agar bei Gonokokken- und Meningokokken-Kulturen.

Kulturen	Zeit d. Ablsg. n. Std.	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0,10—3,0
Gonok. L.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
St.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meningok. Berlin	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meningok. Hygienisches Inst. Rostock	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Versuche mit Zusatz von unverdünnter dänischer Rindergalle in steigenden Mengen zum einfachen Pepton-Agar bei Gonokokken- und Meningokokken-Kulturen.

Kulturen	Zeit d. Ablsg. n. Std.	Galle 0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0,10—3,0
Gonok.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S.	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
St.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meningok.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Berlin	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meningok.	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hygienisches Inst. Rostock.	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Diese Tabellen zeigen also, dass das Zusetzen der verschiedenen Gallen zum einfachen Pepton-Agar keinen Einfluss auf das Wachstum des Gonokokkus bewirkt. — Wie in der Übersicht über die Entwickelung der Kultur des Gonokokkus schon dargelegt wurde, ist auch auf einfachem Agar kein Angehen der Kultur zu erwarten. Eine Ausnahmestellung nehmen lediglich längere Zeit auf Serum-Agar fortgezüchtete Gonokokken ein, bei denen man häufiger ein Wachstum auf einfachem Agar beobachtet hat (Cohn). Da wir aber diese etwas entfernt liegende Möglichkeit bei einer Kritik unserer Versuchsergebnisse ausser Acht lassen dürfen, können wir vorläufig nur soviel sagen, dass es der Gallezusatz allein nicht vermag, dem Gonokokkus auf einem in normaler Weise ungenügenden Nährboden ausreichende Lebensbedingungen zu geben.

Eindeutigere Ergebnisse ergaben dagegen unsere Versuche mit Gallezusatz zum Ascites-Agar, wie folgende Tabellen zeigen.

Versuche mit Zusatz von verdünnter Rindergalle (auf 100 ccm etwa 15 ccm Aqua dest.) in steigenden Mengen und 1,5 Ascites zum einfachen Pepton-Agar bei Gonokokken- und Meningokokken-Kulturen.

Kulturen	Zeit d. Ablsg. n. Std.	1,5 + 0,1 Asc. Galle	1,5 + 0,2	1,5 0,3	1,5 0,4	1,5 0,5	1,5 0,6	1,5 0,7	1,5 — 2,0	Ascites-Kontrolle.
Gonok.	24	+ −	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + − +
		+ +	+ +							
S.	48	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
St.	24	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
„	48	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
D.	24	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
„	48	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
H.	24	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
„	48	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	+ + + +
		+ +	+ +							
Meningo-kokken	24	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	—	+ + + +
		+ +	+ +	+ +	+	+				
Berlin	48	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	—	+ + + +
		+ +	+ +	+ +	+ +	+				
Meningo-kokken	24	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	—	+ + + +
		+ +	+ +	+ +	+	+				
Hygienisches Institut Rostock	48	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	—	+ + + +

Versuche mit Zusatz von unverdünnter Rindergalle in steigender Menge und 1,5 ccm Ascites zum einfachen Pepton-Agar bei Gonokokken- und Meningokokken-Kulturen.

Kulturen	Zeit d. Ablsg. n. Std.	1,5 0,5	Galle Asc: 0,2	1,5 0,3	1,5 0,4	1,5 0,5	1,5 0,6	1,5 — 0,7	1,5 — 2,0	Ascites-Kontrolle.
Gonok.	24	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
S.	48	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
St.	24	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
„	48	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
D.	24	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
„	48	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
H.	24	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
„	48	++ ++	++ ++	++	++	+	—	—	—	++++
Meningok. Berlin	24	++ ++	++ ++ ++ ++	++	++	++	+	—		++++
	48	++ ++	++ ++ ++ ++	++	++	++	+	—		++++
Meningok. Hygienisches Inst. Rostock.	24	++ ++	++ ++ ++ ++	++	++	++	+	—		++++
	48	++ ++	++ ++ ++ ++	++	++	++	+	—		++++

Versuche mit Zusatz von unverdünnter Schweinegalle in steigender Menge und 1,5 ccm Ascites zum einfachen Pepton-Agar bei Gonokokken- und Meningokokken-Kulturen.

Kulturen	Zeit d. Ablsg. n. Std.	1,5 Asc. 0,1 Galle	1,5 0,2	1,5 0,3	1,5 0,4	1,5 0,5	1,5 0,6	1,5 0,7	1,5 0,8	1,5 — 2,0	Ascites-Kontrolle.
Gonok.	24	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
L.	48	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
St.	24	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
„	48	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
D.	24	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
„	48	— —	— —	++	+	—	—	—	—	—	++++
H.	24	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
„	48	++ ++	++ ++	++	+	—	—	—	—	—	++++
Meningok. Berlin	24	++ ++	++ ++	++ ++	++ +	++ +	++	+	—	—	++++
	48	++ ++	++ ++	++ ++	++ +	++ +	++	+	—	—	++++
Meningok. Hygien. Institut Rostock	24	++ ++	++ ++	++ ++	++ +	++ +	++	+	—	—	++++
	48	++ ++	++ ++	++ ++	++ +	++ +	++	+	—	—	++++

Hier sehen wir, dass nur bei minimalem Gallezusatz bis + 0,2 im Vergleich zu den Kontrollplatten normales Wachstum erfolgt, dagegen schon bei + 0,3 deutliche Wachstumshemmung eintritt. Bei + 0,4 haben wir nur noch schwaches Angehen der Kultur, von + 0,5 ab tritt komplette Hemmung ein.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Meningokokkus, der bekanntlich dem Gonokokkus in seinen morphologischen Eigenschaften weitgehend gleicht, nur mit dem Unterschied, dass hier erst bei + 0,8 vollkommene Hemmung des Wachstums eintritt. Bemerkenswert ist ferner, dass das Resultat, unabhängig von der verschiedenen Zusammensetzung der Galle, das gleiche ist.

Die kritische Würdigung dieser Ergebnisse können wir kurz fassen: Es hat sich erwiesen, dass es mit dem Zusatz von Galle nicht möglich ist, einen den bisherigen Nährböden überlegenen zu finden. Inwieweit diese Resultate gegen die Richtigkeit der Arbeit Borju's und Serisorin's sprechen, soll hier nicht entschieden werden. — Als positives Ergebnis dieser Versuche können wir jedoch die Tatsache registrieren, dass es durch Gallezusatz zum Ascites-Agar gelingt, den Meningokokkus vom Gonokokkus kulturell zu trennen.

Bei unseren weiteren Bemühungen, einen Nährboden zu finden, der den oben skizzierten Anforderungen genügt, wurde unsere Aufmerksamkeit durch eine von Copelli erschienene Arbeit auf den Urinzusatz zum Nährsubstrat gerichtet.

Bevor wir auf die Copelli'schen Versuche eingehen, sei über die schon kurze Zeit nach Bumm's grosser Entdeckung des Blutserums als Gonokokken-Nährboden fallenden Experimente, Gonokokken auf Urin-Agar zu züchten, berichtet:

Nach Angaben von Koch und Cohn im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen verwendete Steinschneider Agar + eiweisshaltigen Urin zu seinen Versuchen. Die Resultate waren ungünstig. Hammer dagegen will mit diesem Nährboden befriedigendere Erfolge erzielt haben. Auch Heymann und Wagner, die Versuche in dieser Richtung anstellten, kommen zu keinem übereinstimmenden Ergebnis. Heymann will nur spärliches, Wagner dagegen besseres Wachstum der Gonokokken gesehen haben.

Also auch diese Angaben erlauben kein abschliessendes Urteil und geben zu einer Nachprüfung Anregung.

Nach dieser Übersicht über die bekannte Literatur kehren wir zu der Copelli'schen Arbeit zurück. Copelli lässt Gonokokken, um sie abzuschwächen, eine Reihe von Nährmedien mit abnehmender Nahrhaftigkeit passieren, indem er das native Eiweiss durch andere Substrate ersetzt. Die Abschwächung bis zur völligen Avirulenz soll nach seinen Angaben durch Passage über folgende 7 Nährböden erreicht sein:

A) Serum-Agar;
B) entrahmte caseïnlose Milch 180, Harn 100, Glykose 3, Agar 5,4;
C) Harn 100, Glykose 1, Pepton 1, Agar 1,8;
D) Harnstoff 1, Glykose 1, Pepton 1, Agar 1,8, Wasser 100;
E) Glykose 3, Harnstoff 1, Pepton 1, Agar 1,8, Wasser 100;
F) Glykose 3, Harnstoff 1, Agar 1,8, Wasser 100;
G) Glykose 3, Agar 1,8, Wasser 100.

Nagell, der diese Arbeit einer Nachprüfung unterzog, fand, dass schon auf dem Nährboden B von seinen Stämmen keiner mehr zum üppigen Wachstum zu bringen war. — Das saftige Wachstum, wie wir es von den auf Serum-Agar gezüchteten Kulturen zu sehen gewohnt sind, konnte auch bei längerer Bebrütung auf dem Nährboden B niemals erreicht werden. — Immerhin war es auffallend, dass auf dem Nährboden B und C spärliches Wachstum bei einigen Stämmen eintrat, und wir gehen wohl nicht fehl in der Annahme, dass das Wachstum auf B und C auf die Anwesenheit des Urins im Nährsubstrat zurückzuführen ist, denn auf D bis G, wo der Urin durch Harnstoff und Wasser und zuletzt nur durch Wasser ersetzt ist, gelang es nie, den Gonokokkus auch nur zu ganz geringem Angehen zu bringen.

Diese Tatsache liess es uns angebracht erscheinen, den Urinzusatz zum Nährboden wieder einmal experimentell aufzugreifen und weiter auszubauen.

Zunächst stellten wir in einigen Tastversuchen fest, dass der Urinzusatz zur einfachen Bouillon ungenügende Resultate ergab. Teilweise vollkommenes Versagen, teilweise sehr schwaches Wachstum. Gute Erfolge, das sei vorausgenommen, sahen wir jedoch bei der Verwendung von Ascites-Bouillon + Urin.

Nach anfänglichen Misserfolgen, hervorgerufen durch falsche Mengenverhältnisse oder Verunreinigung, gelang es schliesslich durch folgende Technik zu einem befriedigenden Resultat zu kommen:

Zu einer Ascites-Bouillon, bestehend aus 3 ccm Bouillon + 1 ccm Ascites, werden 0,3 bis 0,5 ccm durch ein Berkefeldfilter sterilisierter Urin von annähernd neutraler Reaktion (Ph 7,3 bis 7,4) zugesetzt. In dieses Gemisch werden Gonokokken mit einer Platinöse gründlich verrieben. Zu beachten ist dabei, dass man genügend viel Material verreibt. Als Kriterium in dieser Hinsicht leistete uns das Eintreten einer leichten Trübung im vorher durchsichtigen Nährsubstrat gute Dienste. Dann kommen die Röhrchen in den Brutschrank, und nach 24 Stunden impft man in üblicher Weise ab. Durch wiederholtes Abimpfen stellt man fest, wie lange es gelingt, aus der Ascites-Bouillon + Urin lebende Gonokokken zu gewinnen.

Verschwiegen sei es nicht, dass es trotz dieser Technik, die sich uns im allgemeinen gut bewährte, nicht immer gelingt, ein Angehen der Gonokokken zu erzielen.

So blieben in einer der angesetzten Versuchsreihen sämtliche Röhrchen steril. Woran dies liegt, ist schwer zu sagen. Es müssen anscheinend doch bei der Kultur des Gonokokkus Einflüsse eine Rolle spielen, die wir im einzelnen nicht näher zu definieren vermögen. Erlebt man es doch immer wieder, dass der eine oder andere Stamm aus ganz unerklärlichen Gründen auf einem der sonst allgemein bewährten Nährböden nicht angeht. Wir sind daher wohl berechtigt, diese Möglichkeit bei einer Kritik unserer Ergebnisse in Anrechnung zu bringen.

Wir lassen jetzt einige für die Ergebnisse unserer Versuche charakteristische Protokolle folgen.

1.

	H.	Kö.
6. XII.	++++	++++
8. „	++++	++++
10. „	steril	steril

2.

	H.	Kö.	S.	Sch.
11. XII.	+++	+++	+	+++
13. „	+++	+++	+++	+++
16. „	+++	+++	+++	+++
17. „	—	—	—	+++
20. „				+

3.

	H.	M.	P.	S.	Schl.
17. XII.	+++	++	+++	+++	+++
20. „	+++	+++	+++	++	+++
27. „	—	—	+++	—	—

4.

	M.	G.	Schl.
15. I.	+++	+++	+++
17. „	+++	+++	+++
19. „	+++	+++	+++

Aus diesen Tabellen ist zu entnehmen, dass Ascites-Bouillon + Urinzusatz der einfachen Ascites-Bouillon als Nährboden für Gonokokken erheblich überlegen ist. Gelingt es doch in letzterer nur etwa 2 Tage Gonokokken lebend zu erhalten, während durch Urinzusatz die Lebensfähigkeit in günstigem Falle auf 8 Tage und länger heraufgesetzt wird. Als untere Grenze der Lebensfähigkeit fand sich im allgemeinen eine Dauer von 3—4 Tagen.

Es ist somit gelungen, einen Nährboden zu finden, der einfach herzustellen ist und dem bisher gebräuchlichen überlegen ist. Besonders aber im Hinblick auf die Gewinnung von Lebend-Vakzine bedeutet dieser Nährboden einen erwünschten Fortschritt.

Literatur.

1. Neisser, A.: Über eine der Gonorrhoe eigentümliche Micrococcusform. Zentralbl. f. med. Wissenschaft 1879, No. 28.
2. Bumm, Ernst: Der Mikroorganismus der gonorrhoischen Schleimhaut-Erkrankungen „Gonococcus Neisser". 2. Aufl. 1887.
3. Bucai, A.: Über das Contagium der akuten Blennorrhoe. Allgem. med. Centralzeitung 1880, No. 174.
4. Sternberg: Med. news. vol. XIV. 1884, No. 16.
5. Oppenheimer: Untersuchungen über den Gonococcus. Arch. f. Gynaekologie. XXV. p. 126.
6. Leistikow: Berliner klin. Wochenschr. 1882 p. 500: Sitzungsbericht der Charitéärzte vom 16. II. 82.
7. Krause: Die Micrococcen der Blennorrhoe neonatorum. Centralbl. f. prakt. Augenheilkunde 1882 S. 134.
8. Wertheim: Reinzüchtung der Gonokokken durch Plattenkultur. Deutsche Med. Wochenschr. 1891.
9. Kiefer: Zur Kultur des Gonococcus Neisser. Berliner Klin. Wochenschr. 1895.
10. Koch und Cohn, A.: „Gonokokkeninfektionen" im Handb. d. pathogenen Mikroorganismen (Kolle, Krause, Uhlenhut).
11. Borju, S. und Serisorin, S.: Die experimentelle Kaninchengonorrhoe. Vestuic microbiologii i. epidermiologii, Bd. IV No. 3 S. 59.
12. Nagell und Partsch: Gonorrhoische Infektion bei Versuchstieren unter besonderer Berücksichtigung der Gelenkinfektion. Deutsche Med. Wochenschr. 1927 S. 835.
13. Bursuk: Über die Möglichkeit, bei Kaninchen eine experimentelle Gonoblennorrhoe der Augen zu erzielen. Klin. Monatsbl. f. Augenheilkunde 1928 Bd. 81 S. 648.
14. Burtscher und Lauter: Zur Frage der experimentellen Kaninchengonorrhoe. Zentralbl. f. Bakteriologie 1928, Original-Band 108 S. 245.
15. Schrader: Gonorrhoische Infektion bei Versuchstieren. Deutsche Med. Wochenschr. 1927 S. 1467.

16. Retzlaff: Zur Frage der genorrhoischen Infektion bei Versuchstieren. Zentralbl. f. Bakteriologie 1929, Original-Band 113 S. 130.
17. Pecnikow und Zeliscere: Zur Frage der experimentellen Gonorhoe. Zentralbl. f. Haut- u. Geschl.-Krankh. 1927 No. XXIV S. 701.
18. Finkelstein und Timochina: Übertragung der Gonorrhoe auf Tiere. Zentralbl. f. Haut- u. Geschl.-Krankh. 1927 No. XXIV S. 760.
19. Landois-Rosemann: Lehrbuch der Physiologie, 15. Aufl. Bd. I S. 292.
20. Copelli: Attennuazione del gonococce. „Giornale Italiano delle Malatti Veneree e della Telle“ 1915 No. 3.
21. Steinschneider
22. Hammer
23. Heymann
24. Wagner

Im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle, Krauss, Uhlenhut), Koch und Cohn: Gonococconen-Infektionen. S. 691/92.

Lebenslauf.

Ich, Heinz Möhlmann, wurde am 14. Februar 1906 als Sohn des beeidigten Auktionators Friedrich Möhlmann und seiner Ehefrau Marie, geb. Schröder, zu Thedinghausen (Bezirk Bremen, Kreis Braunschweig) geboren.

Bis zu meinem 12. Lebensjahre besuchte ich die Volksschule in Thedinghausen, dann 6 Jahre das „Neue Gymnasium" in Bremen, wo ich Ostern 1924 das Abiturientenexamen bestand. Vom Sommersemester 1924 bis Sommersemester 1927 studierte ich in Freiburg/Br. Medizin und bestand dortselbst am 1. August 1927 das medizinische Vorexamen. Wintersemester 1927/28 besuchte ich die Universität Münster/Westf., Sommersemester 1928 die Universität Freiburg, Wintersemester 1928/29, Sommersemester 1929, Wintersemester 1929/30 die Universität zu Rostock. Hier legte ich am 17. Mai 1930 das medizinische Staatsexamen ab.

Seit dem 1. Juni 1930 bis jetzt bin ich als Medizinal-Praktikant an der Universitäts-Hautklinik Rostock tätig.